

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-239325

(43)Date of publication of application : 11.09.1998

(51)Int.Cl.

G01N 37/00

G01N 1/28

G02B 21/34

(21)Application number : 09-042714

(71)Applicant : SEIKO INSTR INC

(22)Date of filing : 26.02.1997

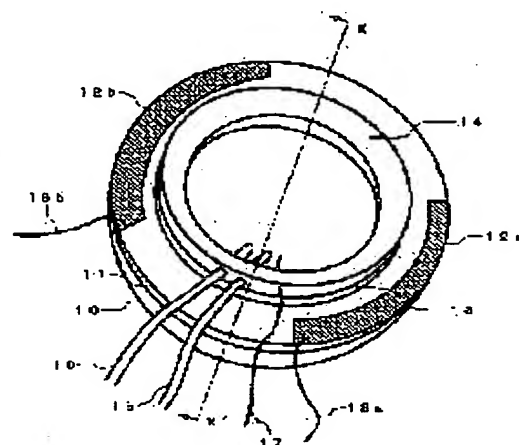
(72)Inventor : USHIKI TATSUO  
UMEKI TAKESHI

## (54) SAMPLE RECEPTACLE FOR OBSERVING SAMPLE IN LIQUID

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a living sample receptacle for observing by a microscope having scanning probe capable of being located easily to a transparent living sample, observing the living sample for a long time under the living condition and circulating liquid without interrupting the observation.

**SOLUTION:** A transparent electrode film 11 is formed on a circular glass substrate 10 and a liquid holding ring 14 is placed thereon through an insulating glass substrate 13. When electric power is supplied from conduction 18a, 18b for a heater, the transparent electrode film 11 generates heat. Thus, the temperature of liquid held by the liquid holding ring 14 can be held at the temperature of a growing-up living being. The liquid holding ring 14 is provided with an infusing pipe and exhaust pipe 16 penetrating therethrough. Also, a conductor 17 connected to a thermo-couple for measuring the temperature of the liquid in the liquid holding ring 14 is conducted out through the liquid holding ring 14. The liquid is held in the liquid holding ring 14 by the surface tension.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

06.12.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the  
examiner's decision of rejection or application  
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

3480546

[Date of registration]

10.10.2003

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection][Date of requesting appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of extinction of right]

Best Available Copy

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-239325

(43) 公開日 平成10年(1998) 9月11日

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I	
G 0 1 N 37/00		G 0 1 N 37/00	A
1/28		G 0 2 B 21/34	
G 0 2 B 21/34		G 0 1 N 1/28	J
			W

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平9-42714

(22) 出願日 平成 9 年(1997) 2 月26日

(71) 出願人 000002325

セイコーインスツルメンツ株式会社  
千葉県千葉市美浜区中瀬1丁目8番地

(72) 発明者 牛木 辰男

新潟県新潟市西大畑町5214 西大畑住宅1-102

(72) 発明者 梅基 毅

千葉県千葉市美浜区中瀬1丁目8番地 セイコー電子工業株式会社内

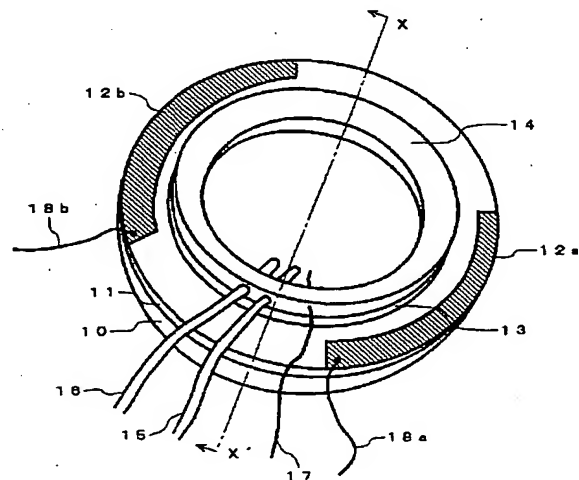
(74) 代理人 弁理士 林 敬之助

(54) 【発明の名称】 液中試料観察用試料容器

(57) 【要約】

【課題】 透明な生物試料に対して位置合わせが容易で、生物試料を生きている状態で長時間観察でき、観察を中断することなく、液を還流することのできる走査プローブ顕微鏡観察用生物試料容器を提供することにある。

【解決手段】 円形のガラス基板10上に透明電極膜11が形成され、その上に、絶縁用ガラス基板13を介して液体保持用リング14が置かれている。ヒータ用導線18a、18bから電力が供給されると、前記透明電極膜11は発熱する。このため、液体保持用リング14に保持された液体の温度を生物の生育温度に保持できる。液体保持用リング14には、これを貫通して注入管15と排出管16とが設けられ、また該液体保持用リング14内の液体の温度を測定するための熱電対に接続された導線17が液体保持用リング14を通過して導出されている。液体は、前記液体保持用リング14中に表面張力で保持される。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 液中の試料の観察に適した試料容器であって、  
透明なガラス基板と、  
該ガラス基板上に設けられ、電力が供給されると発熱する透明電極膜と、  
該透明電極膜上に設けられた絶縁用ガラス基板を介して設けられた液体保持用リングとを具備したことを特徴とする液中試料観察用試料容器。

【請求項2】 請求項1記載の液中試料観察用試料容器において、  
前記液体保持用リングを貫通する液体注入管と液体排出管とを具備したことを特徴とする液中試料観察用試料容器。

【請求項3】 請求項1記載の液中試料観察用試料容器において、  
前記液体保持用リング内に、該液体保持用リング内に保持された液体の温度を監視するための温度センサを設けたことを特徴とする液中試料観察用試料容器。

【請求項4】 請求項1記載の液中試料観察用試料容器において、  
前記液体保持用リング内の液体を、表面張力で保持するようにしたことを特徴とする液中試料観察用試料容器。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】この発明は液中試料観察用試料容器に関し、特に生物試料を生育に適した環境に置きながら走査プローブ顕微鏡で観察できるようにし、かつ同時に透過型の光学顕微鏡による観察を可能にした液中試料観察用試料容器に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来の液中セルは、主に、材料分野や電気化学への適用を考えた構造になっている。材料分野や電気化学へ適用する場合には、液として、水溶液ばかりでなく、強いアルカリや酸を用いる場合があるから、これによって容器が腐食しないように、テフロン等の不透明な材料で容器が作られている。また、液が蒸発すると、液のPH等が変化し、測定中に測定条件が変化してしまうので、これを防止するために、密閉型の容器を使用している。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】前記したような液中セルを、走査プローブ顕微鏡観察用の生物試料容器に使用しようすると、次のような問題があった。

(1) 前記した従来装置では、容器の底面が不透明であるので、透過型の光学顕微鏡による観察ができないという問題、また、細胞や細菌等の生物試料を観察する場合には、走査プローブ顕微鏡の探針を該生物試料の観察位置に正確に位置合わせをする必要があるが、従来装置は、前記した理由で、透過型の光学顕微鏡による観察ができ

ず、透明な生物試料を位置合わせするのに不便であるという問題があった。

【0004】(2) 細胞や細菌等の生物試料は、生育に適した温度が37℃程度であるが、従来装置では、容器内の液温は室温になるので、該生物試料を生きている状態で長時間観察することができない。(3) 従来装置は、容器が密閉型であるので、外部から内部に液を流すと、プローブがこれによって影響を受ける。このため、液を流す時には、観察を中断しなければならない。

【0005】この発明の目的は、前記した従来技術の問題点を除去し、透明な生物試料に対して位置合わせが容易で、生物試料を生きている状態で長時間観察でき、観察を中断することなく、液を還流することのできる走査プローブ顕微鏡観察用生物試料容器を提供することにある。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】前記した目的を達成するために、この発明は、透明なガラス基板と、該ガラス基板上に設けられ、電力が供給されると発熱する透明電極膜と、該透明電極膜上に設けられた絶縁用ガラス基板を介して設けられた液体保持用リングとを具備した液中試料観察用試料容器を提供した点に第1の特徴がある。また、前記液体保持用リングを貫通する液体注入管と液体排出管とを具備した点に第2の特徴がある。さらに、前記液体保持用リング内の液体を、表面張力で保持するようにした点に第3の特徴がある。

【0007】本発明によれば、透過型の光学顕微鏡による観察と、走査プローブ顕微鏡による観察の両方を行えるようになる。また、液体温度を生物の生育温度に保持できるので、生物を生育しながら長時間観察できるようになる。また、液体保持用リング内の液体を表面張力で保持しているので、液体の還流の影響を該表面張力で吸収出来る。このため、該液体の還流中もカンチレバーは還流の影響を受けず、試料の観察を継続して行えるようになる。

## 【0008】

【発明の実施の形態】以下に、図面を参照して、本発明を詳細に説明する。図1は、本発明の生物試料容器の一実施形態の構成を示す斜視図である。また、図2は、図1のX-X'線断面図である。生物試料容器は、図示されているように、円形のガラス基板10上に透明電極膜11が形成されている。該透明電極膜11の側部には、好ましくは相対向して金属電極12a、12bが設けられている。一方、該透明電極膜11の中央部には、前記ガラス基板10と同心の円形状の絶縁用ガラス基板13が固定的に設置され、該絶縁用ガラス基板13上にこれと同心の液体保持用リング14が置かれている。該透明電極膜11は、一例として、ITO膜（インジウム-錫-オキサイド膜）で形成することができ、液体保持用リング14は、一例として、シリコンゴムで形成する

ことができる。該生物試料容器の底面は、前記ガラス基板10、透明電極膜11および絶縁用ガラス基板13の積層から構成されているので、透明である。

【0009】該液体保持用リング14には、これを貫通して注入管15と排出管16とが設けられ、また該液体保持用リング14内の液体の温度を測定するための熱電対に接続された導線17が液体保持用リング14を通して導出されている。前記金属電極12a、12bの一部には、これらの金属電極12a、12b間に所定の電圧を印加するためのヒータ用導線18a、18bが接続されている。次に、前記した生物試料容器を、AFM（原子間力顕微鏡）に使用した時の装置構成を、図3を参照して説明する。なお、図3において、図1と同一または同等物には、同一の符号が付されている。

【0010】前記生物試料容器の上方には、カンチレバーホルダ21が配置されている。21aは該カンチレバーホルダ21の透明窓である。カンチレバーホルダ21の下面の一部には、カンチレバー23が取付けられており、生物試料容器中の該カンチレバー23に対向する位置に測定試料24が置かれている。該生物試料容器とカンチレバーホルダ21の間には、注入管15から供給され、排出管16から排出される液体25が充填されている。この液体はその側面に囲いがなくても、液体の表面張力で外側に流出することはない。該生物試料容器は、X、Y、Zピエゾスキャナ22によって支持されている。

【0011】カンチレバーホルダ21の上方には、カンチレバー23の振動を検知するためのレーザダイオード26、ハーフミラー27、およびフォトダイオード28が配置されている。29は生物試料の観察を行ったり、カンチレバー23に保持された探針を生物試料の観察位置に正確に位置合わせしたりするのに使用する透過型の光学顕微鏡の対物レンズである。

【0012】次に、本実施形態の動作を、図1～3を参照して説明する。生物試料容器中に置かれた測定試料24の測定位置に探針を合わせる時には、図示されていない透過型の光学顕微鏡を用いて行う。生物試料容器の底面は、前記したように透明であるので、生物試料容器の底面側から入射された光Pは、該生物試料容器の底面、測定試料24、カンチレバーホルダ21の透明窓21aおよびハーフミラー27を通して、対物レンズ29に達する。このため、光学顕微鏡で、測定試料24とカンチレバー23の相対位置関係を観察することができ、探針を測定試料24上の観察したい位置に正確に合わせることができる。また、前記透過型の光学顕微鏡により、直接試料の観察を行うことができる。

【0013】前記測定試料24が細胞や細菌等の生物試料である場合には、生育に適した液体温度は37℃程度である。本実施形態の生物試料容器によれば、その底面にITO膜等で構成された透明電極膜11が設けられ

ているので、ヒータ用導線18a、18bから予め定められた電圧を印加することにより、透明電極膜11が発熱し、液体25の温度を約37℃に保つことができる。この温度は、生物試料容器中に置かれた前記熱電対により検知することにより、監視することができる。このように、液体25の温度を約37℃に保つことができるので、細胞や細菌等の生物試料を、生育しながら、長時間に渡って、観察できるようになる。

【0014】また、生物試料容器中の液体の供給、排出は、注入管15と排出管16を用いて行うことができる。このため、生物試料容器中の液体の側面に囲いがなくても、液体が蒸発してその濃度に変化することはない。また、該生物試料容器は液体を表面張力で保持しているので、液体の還流の影響を該表面張力で吸収出来る。このため、注入管15と排出管16を用いて生物試料容器中の液体を供給、排出しても、カンチレバー23はこれの影響を受けず、液体の還流中も観察を続行することができる。

【0015】

【発明の効果】前記した説明から明かなように、本発明によれば、試料容器の底面が透明であるので、透過型の光学顕微鏡による観察と、走査プローブ顕微鏡による観察の両方を行えるようになる。また、このため、走査プローブ顕微鏡の探針を該生物試料の観察位置に正確に位置合わせするのが容易になる。

【0016】また、液体を還流しながら、かつ液温を所定の温度に保つことができるので、生物試料を液中で生育しながら、長時間に渡って観察することができる。また、カンチレバーは液体の還流の影響を受けないので、該液体の還流中も観察を継続することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施形態の試料容器の斜視図である。

【図2】図1のX-X'線断面図である。

【図3】前記実施形態の試料容器を、AFMに適用した時の説明図である。

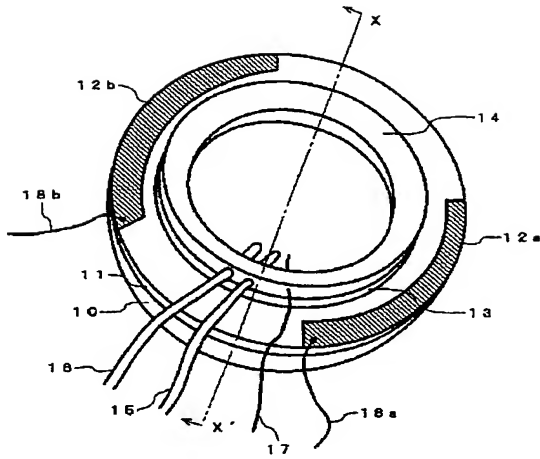
【符号の説明】

- 10 ガラス基板
- 11 透明電極膜
- 12a、12b 金属電極
- 13 絶縁用ガラス基板
- 14 液体保持用リング
- 15 注入管15
- 16 排出管
- 21 カンチレバーホルダ
- 22 X、Y、Zピエゾスキャナ
- 23 カンチレバー
- 24 測定試料
- 25 液体

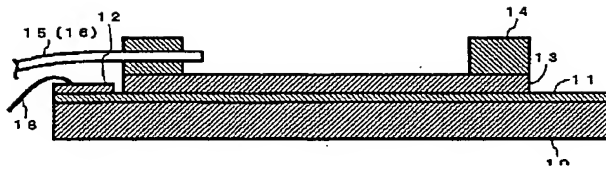
(4)

特開平10-239325

【図1】



【図2】



【図3】

